





REMEDY FOR NEUROPATHY

Patent number: JP1319422
Publication date: 1989-12-25
Inventor: KONISHI JINEMON
Applicant: NIPPON ZOKI PHARMACEUTICAL CO
Classification:
- international: A61K35/12
- european:
Application number: JP19880152492 19880620
Priority number(s): JP19880152492 19880620

Also published as:

 EP0348353 (A2)
 US5013558 (A1)
 EP0348353 (A3)
 EP0348353 (B1)

Report a data error here

Abstract of JP1319422

PURPOSE:To obtain a remedy for neuropathy, containing a physiologically active substance extracted from an infected animal tissue (hereinafter referred to as infected tissue) inflamed by inoculating various viruses into an animal or cultured tissue as an active ingredient with low toxicity without side effects. **CONSTITUTION:**A remedy for neuropathy, obtained by grinding an infected tissue, adding an extracting solvent, filtering or centrifuging the mixture to remove tissual pieces, then deproteinizing the filtrate, adjusting the pH of the resultant extract solution containing active ingredients to pH3.5-5.5 with an acid, adsorbing the adjusted extract solution on an adsorbent, such as active carbon or kaolin, subsequently adding an eluting solvent, such as water or methanol, eluting the adsorbed ingredients, adjusting the pH to about a neutral value, evaporating the adjusted eluate to dryness under reduced pressure or freeze-drying the eluate to afford the objective physiologically active substance, directly using or blending the substance with other pharmaceutically active ingredients, preparing a pharmaceutical by a conventional method and having promoting action on nervous growth. The remedy can be prepared in the form of tablet, capsule, dust, granule, powder, solution, injection, suppository, etc.

Data supplied from the *esp@cenet* database - Worldwide

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 01-319422

(43)Date of publication of application : 25.12.1989

(51)Int.Cl.

A61K 35/12

A61K 35/12

(21)Application number : 63-152492

(71)Applicant : NIPPON ZOKI PHARMACEUT CO LTD

(22)Date of filing : 20.06.1988

(72)Inventor : KONISHI JINEMON

(54) REMEDY FOR NEUROPATHY

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain a remedy for neuropathy, containing a physiologically active substance extracted from an infected animal tissue (hereinafter referred to as infected tissue) inflamed by inoculating various viruses into an animal or cultured tissue as an active ingredient with low toxicity without side effects.

CONSTITUTION: A remedy for neuropathy, obtained by grinding an infected tissue, adding an extracting solvent, filtering or centrifuging the mixture to remove tissual pieces, then deproteinizing the filtrate, adjusting the pH of the resultant extract solution containing active ingredients to pH3.5-5.5 with an acid, adsorbing the adjusted extract solution on an adsorbent, such as active carbon or kaolin, subsequently adding an eluting solvent, such as water or methanol, eluting the adsorbed ingredients, adjusting the pH to about a neutral value, evaporating the adjusted eluate to dryness under reduced pressure or freeze-drying the eluate to afford the objective physiologically active substance, directly using or blending the substance with other pharmaceutically active ingredients, preparing a pharmaceutical by a conventional method and having promoting action on nervous growth. The remedy can be prepared in the form of tablet, capsule, dust, granule, powder, solution, injection, suppository, etc.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

平1-319422

⑬ Int.Cl.

A 61 K 35/12

識別記号

AAA
AAM

庁内整理番号

8615-4C
8615-4C

⑭ 公開 平成1年(1989)12月25日

審査請求 未請求 請求項の数 5 (全4頁)

⑮ 発明の名称 神経疾患治療剤

⑯ 特 願 昭63-152492

⑰ 出 願 昭63(1988)6月20日

⑱ 発 明 者 小 西 甚 右 衛 門

兵庫県加東郡社町木梨字川北山442番1 日本臓器製薬株式会社生物活性科学研究所内

⑲ 出 願 人 日本臓器製薬株式会社

大阪府大阪市東区平野町2丁目10番地

⑳ 代 理 人 弁理士 村山 佐武郎

明 細 書

1. 発明の名称

神経疾患治療剤

2. 特許請求の範囲

(1) 感染組織より抽出される生理活性物質を有効成分として含有する神経疾患治療剤。

(2) 帯状疱疹後神経痛治療剤である特許請求の範囲第1項記載の神経疾患治療剤。

(3) 脳浮腫治療剤である特許請求の範囲第1項記載の神経疾患治療剤。

(4) 抗痴呆剤である特許請求の範囲第1項記載の神経疾患治療剤。

(5) 脊髄小脳変性症治療剤である特許請求の範囲第1項記載の神経疾患治療剤。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、感染組織より抽出される生理活性物質を有効成分として含有する神経疾患治療剤に関する。

(従来の技術)

神経成長促進因子(NGF)は、交換神経節や知覚神経節の神経細胞の分化や成長を促進する作用を有し、末梢神経系の神経疾患との関連が古くから示唆されており、これら疾患に対する治療剤の候補と

して挙げられている。また近年、NGFは脳内でも合成され機能していることが明らかになり、アルツハイマー型老人痴呆症の発症の原因とNGFの相関が注目され、痴呆治療剤としてNGFを活用する可能性が期待されている。

しかし、NGFは蛋白質因子であるため、人間への治療剤として使用する場合には、投与方法、剤形など多くの問題点がある。従って、NGFと同様の神経成長促進作用を有し、人間に容易に投与でき且つ副作用の少ない薬剤が望まれている。

本発明者らは、各種ウイルスを動物又は培養組織に接種して起炎させた感染動物組織(以下これらを単に感染組織という)より抽出した生理活性物質について探索研究を行った結果、本発明生理活性物質がNGF様の神経系作用を有することを見出し本発明を完成した。

(発明が解決しようとする問題点)

本発明の目的は、感染組織より抽出される生理活性物質を有効成分として含有する各種神経疾患治療剤を提供することにある。

(問題点を解決するための手段)

本発明治療剤は、感染組織を磨砕し、抽出液を加えて組織片を除去した後、除蛋白処理を行い、こ

れを吸着剤に吸着せしめ、次いで吸着成分を溶出することにより得られる生理活性物質を有効成分として含有するものである。

本発明に用いるウイルスとしては、起炎作用を有するウイルス類、好ましくは、ワクチニアウイルス、牛痘ウイルス、痘疹ウイルス、エクトロメリアウイルス、サルボックスウイルス等のオルソボックスウイルス、オーフウイルス、バラワクチニアウイルス、ウシ乳頭状口内炎ウイルス等のパラボックスウイルス、ヒツジボックスウイルス、ヤギボックスウイルス、猿皮膚ウイルス等のヤギボックスウイルス、ニワトリボックスウイルス、ノウサギ線粒体ウイルス等のトリボックスウイルス、ウサギ粘液腫ウイルス、ウサギ線粒体ウイルス等のウサギボックスウイルス、その他豚痘ウイルス、Yabaサル腫瘍ウイルス、Taraボックスウイルスなどボックスウイルス科に属するウイルス類を挙げることができる。

感染組織を得るための動物としては、ウサギ、ヒツジ、ヤギ、ブタ、ウシ、ウマ、サル、ハムスター、モルモット、ラット、マウス、ニワトリなど種々の哺乳動物や鳥類を用いることができ、ボックスウイルスの種類や目的に応じて選択できる。

又、培養組織としては、使用する種類のボックス

ウイルスが増殖可能な培養細胞を用いることができ、例えば、ウサギ、ヒツジ、ヤギ、ブタ、ウシ、ウマ、サル、ハムスター、モルモット、ラット、マウス及びそれら胎児の腎臓、皮膚、肺臓、睾丸、肝臓、筋肉、副腎、甲状腺、脳、神経細胞、血球など各組織の培養細胞や腫瘍細胞培養株、Hela細胞等のヒト由来の培養組織、並びに卵巣尿酸などが挙げられる。

これら感染組織を無菌的に採取して磨砕し、その1乃至5倍量の抽出溶媒を加えて乳化懸濁液とする。抽出溶媒としては、蒸留水、生理食塩水、弱酸性乃至弱塩基性の緩衝液などを用いることができ、グリセリン等の安定化剤、フェノール等の殺菌・防腐剤、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化マグネシウム等の無機塩類などを適宜添加してもよい。この時、凍結融解、超音波、細胞膜溶解酵素又は界面活性剤等の処理により細胞組織を破壊して抽出を容易にすることができる。

得られた乳状抽出液を濾過又は遠心分離して組織片を除去した後、除蛋白処理を行う。除蛋白は、公知の方法により実施でき、加熱、超音波、蛋白質変性剤、例えば、酸、塩基、尿素、グアニジン、有機溶媒、界面活性剤等による処理、等電点沈降、塩析等の方法を適用することができる。次いで、濾紙

(セルロース、ニトロセルロース等)、グラスフィルター、セライト、ザイツ濾過板等を用いた濾過、限外濾過、ゲル濾過、イオン交換樹脂、遠心分離などにより析出してきた不溶蛋白質を除去する。

こうして得られた有効成分含有抽出液を、塩酸、硫酸、臭化水素酸等の酸を用いて酸性、好ましくはpH 3.5乃至5.5に調整し、吸着剤への吸着操作を行う。使用可能な吸着剤としては、活性炭、カオリン、イオン交換樹脂などを挙げることができ、抽出液中に吸着剤を添加し攪拌するか、吸着剤を充填したカラムを通過させることにより、有効成分を吸着させることができる。

吸着成分より、本発明物質を溶出するには、前記吸着剤に溶出溶媒を加え、室温又は適宜加熱して或いは攪拌して溶出し、濾過等の通常の方法で吸着剤を除去して達成できる。用いられる溶出溶媒としては、水、メタノール、エタノール、イソプロパノール等又はこれらの適当な混合溶液、或いは塩基性溶媒、好ましくはpH 9乃至12に調整した前記溶媒を使用することができる。

このようにして得られた溶出液を、好ましくはpH 6.5乃至8.5の中性付近に調整した後、減圧下に蒸発乾固又は凍結乾燥することによって、目的とす

る生理活性物質を得ることができる。

前記操作によって抽出、精製された本発明有効成分は以下の物理化学的性質を有する。

①性状：淡黄褐色無定形の吸湿性粉末

②溶解性：水、メタノール、エタノールに可溶

③紫外線吸収：UV_{max} 255~275nm

④ニンヒドリン反応：陽性

⑤本発明物質を2mgをとり、過塩素酸1mlを加え、液が黒色となるまで加熱し、希硫酸3ml、塩酸アミドール0.4g及び亜硫酸水素ナトリウム8gに水100ml加えて溶かした液2ml、モリブデン酸アンモニウム1gに水30mlを加えて溶かした液2mlを加え放置するとき、液は青色を呈する。

⑥本発明物質5mgをとり、水を加えて溶かし10mlとし、この液1mlにオルシン0.2g及び硝酸第二鉄アンモニウム0.135gにエタノール5mlを加えて溶かし、この液を塩酸83mlに加え、水を加えて100mlとした液3mlを加え沸騰水浴中で加熱するとき、液は緑色を呈する。

⑦本発明物質の水溶液は硝酸銀試薬で沈澱を生じる。

⑧核酸塩基類を含有する。

⑨本発明物質に対する各種蛋白検出反応は陰性である。

以下は、本発明物質の製造方法の実施例である。
但し、これらは本発明の範囲を限定するものではない。

(実施例)

実施例 1.

健康な成熟家兎の皮膚にワクチニアウイルスを接種し感染させた後、発症した皮膚を無菌的に剥出しこれを細切した後フェノール加グリセリン水を加え、ホモゲナイザーで磨砕し乳状とした。次いでこれを遠心濾過し、得た濾液を塩酸で酸性（約pH 4.5乃至5.5）に調整した後、流通蒸気下 100℃で加熱処理し濾過した。濾液はさらにザイツ濾板を用いて濾過した後、水酸化ナトリウムで弱アルカリ性（約pH 8.5乃至10.0）とし、さらに 100℃で加熱処理した後濾過した。濾液を塩酸でpH 4.5とし、活性炭 1.5%を加えて 1乃至5時間攪拌した後濾過した。濾取した活性炭に水を加え水酸化ナトリウムでpH 9.4乃至10に調整し、3乃至5時間攪拌した後、濾過した。濾液を塩酸で約pH 7の中性付近に中和し、減圧下に濃縮乾固して本発明物質を得た。

実施例 2.

実施例 1と同様にして得た吸着活性炭にメタノールを加え、1時間攪拌した後濾過した。減圧下に乾

物を無血清のものと置き換え、且つヒトトランスフェリン、ウシインシュリン、プロゲステロンを添加し、本発明物質を 100 μ g/ml となるように加え、37℃、90%空気-10%炭酸ガス下で3日間インキュベートした。

神経突起（ $\geq 20 \mu$ m）を有する細胞数の割合を、位相差顕微鏡を用い、無作為の10範囲で細胞数を計測して求めた。

その結果、神経突起形成及び細胞表面の形態変化において、本発明物質はNGFと類似の神経細胞成長作用を有することが認められた。

(3) 臨床試験

1. 帯状疱疹後神経痛

帯状疱疹後神経痛の患者に対して、本発明物質 8 μ gを毎日2回4週間経口投与した結果、63%の患者で軽度以上の改善が得られ、全体の約半数において著明改善又は中等度改善であった。

II. 脳浮腫

脳浮腫の患者に対して、一日に本発明物質10乃至36 μ gを1乃至2週間静脈内投与又は点滴静注し、その後病状に従って、8乃至16 μ gを毎日2回経口投与する治療を数週間継続した。

CTスキャンにより浮腫の大きさを経時的に測定

固して有効成分を得た。

(作用)

次に本発明治療剤の毒性試験及び臨床試験の結果の一例を示す。

(1) 毒性試験

健雄マウス及び健雄ラットに本発明治療剤の有効成分である生理活性物質を経口、皮下、腹腔内、静脈内等の経路で投与し、急性毒性試験を行った。

その結果、動物種及び性差に関係なく、いずれの投与経路においても、本発明物質のLD₅₀は5,000 μ g/kg以上であった。

また、亜急性毒性及び生殖試験など各種の安全性試験を行ったが、各器官で全く異常は認められず、生殖試験においても、母体、胎仔、新生仔及び出生仔の生殖能力に対して全く影響を与えなかった。

(2) 神経成長促進作用

NGFに反応して神経突起を形成し交換神経様の特性を持つ細胞に分化するPC12h（ラットの褐色細胞腫）細胞を用いて、本発明物質の神経成長促進作用を調べた。

PC12h細胞を、5%ウマ血清及び5%準胎児ウシ血清を含むDF培養のコラーゲンコート 24-wellマイクロプレートに移植した。一夜培養後、培養

すると共に、神経学的な評価スケールを用いて、本発明治療剤の臨床効果の評価を行った。

治療開始後10日目におけるステロイド剤と本発明治療剤の治療効果を比較した結果、ステロイド剤による改善の割合が42%であったのに対して、本発明治療剤では63%であり明らかに優っていた。

II. 痴呆症

脳器官性障害、脳血管性痴呆、アルツハイマー型痴呆などの患者を対象として臨床試験を行った。

一日当り本発明物質約10 μ gを静脈内又は点滴静注で患者に投与した。

長谷川式簡易知能精神機能評価スケール、ならびに忘却・感情等の精神症状、日常生活動作スケール（ADL）などによる評価、及び脳波やCTスキャンなどの臨床検査、或いはGBSスケールによる痴呆症状の評価などの方法を用いて臨床試験の評価を行った。

その結果、8週間投与した患者において、約70%以上の症例について、運動機能低下、言語障害、意欲低下、注意・記憶力低下、失禁、情緒障害等の症状を改善する有効性が認められた。

IV. 奇難小脳変性症

本発明物質を遺伝性奇難小脳変性をもつ家系の4

人に数ヶ月間3乃至8回を連日静脈内投与した。末期症状にあった2人の患者には治療効果は見られなかったが、症状が進行期であった残り2名の患者においては、失禁、運動失調、視力減退、夜間騒音、失調性歩行等に対し顕著な改善効果が認められた。

本発明治療剤の効果は治療開始後2週間で現れ、症状進行中の1人の患者においては2週間治療が中断されたが、その中断期間中に再発したあらゆる病理症状は、本発明治療剤による治療を再開することによって再び改善された。

尚、上記いずれの臨床試験において、重篤な副作用はもちろん、不眠、発汗、口渴、消化器異常など軽度な副作用もほとんど認められなかった。

(効果)

上記の実験試験及び臨床試験からも明らかなように、本発明治療剤はNGF様の神経成長促進作用を有し、病変或いは生理機能の低下した脳細胞や神経細胞を修復する働きがあるため、脳動脈硬化症、脳炎後遺症、脳卒中後遺症、頭部外傷後遺症等に伴う脳血管性痴呆、アルツハイマー型老年痴呆を含むアルツハイマー病、パーキンソン病やハンチントン病等の皮質下痴呆などの痴呆症、脳浮腫、脊髄小脳変性症などの脳疾患の他、自律神経失調症、帯状

疱疹後神経痛など交感神経や知覚神経の病変や損傷に伴う各種神経疾患などの治療剤として非常に有用である。

本発明治療剤は、低毒性で副作用がほとんどなく経口投与可能なため、安全に長期的な使用ができ、特に慢性的な疾患を治療するのに有利である。

(実施例)

本発明生理活性物質を活性成分として含有する脳疾患及び神経疾患治療剤は、例えば錠剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤、粉末、液剤、注射剤、座剤等の形態とすることができる。

処方にあたっては本発明物質を単独で用いてもよいし、また他の医薬活性成分との配合剤とすることも可能である。

経口投与製剤には、そのまま或いは適当な添加剤、例えば乳糖、マンニット、トウモロコシデンプン、バレイショデンプン等の慣用の賦形剤と共に、結晶セルロース、セルロース誘導体、アラビアゴム、トウモロコシデンプン、ゼラチン等の結合剤、トウモロコシデンプン、バレイショデンプン、カルボキシメチルセルロースカルシウム等の崩壊剤、タルク、ステアリン酸マグネシウム等の滑沢剤、その他増量剤、湿潤化剤、緩衝剤、保存剤、香料等を適宜組み

合わせて錠剤、散剤、顆粒剤或いはカプセル剤とすることができる。

注射剤としては、注射用蒸留水、生理食塩水、5乃至20%ブドウ糖注射液等の水性溶剤、又は植物油、合成脂肪酸グリセリド、高級脂肪酸エステル、プロピレングリコール等の非水性溶剤の溶液、懸濁液若しくは乳化液とすることができ、必要に応じて溶解補助剤、等張化剤、懸濁化剤、乳化剤、安定剤、保存剤等の通常用いられる添加剤を適宜加えてもよい。又、凍結乾燥製剤としてバイアル瓶等に入れ、使用時に上記溶媒で適宜溶解して使用することもできる。

さらに本発明物質は、各種基剤、例えば乳剤性基剤又は水溶性基剤と混和して坐剤としたり、その他吸入剤、エアゾール剤などに製剤化することができる。

本発明治療剤の望ましい投与量は、投与対象、剤形、投与方法、投与期間等によって変わるが、所望の効果を得るには、一般に成人に対して有効成分量で一日に1乃至100mg、好ましくは2乃至40mg経口或いは経口（例えば注射剤）投与することができる。

以下に本発明治療剤の処方例を示す。

処方例1. (錠剤)

成 分	1錠当たり (mg)
本発明化合物	4
乳 糖	106
結晶セルロース	40
カルボキシメチルセルロースカルシウム	20
ステアリン酸マグネシウム	10
計	180 mg

処方例2. (カプセル剤)

成 分	1カプセル当たり (mg)
本発明化合物	10
乳 糖	200
タ ル ク	40
計	250 mg

処方例3. (注射剤)

成 分	1アンプル当たり (mg)
本発明化合物	1
塩化ナトリウム	適量
注射用蒸留水	適量
全量	1 ml